

KAJIAN LITERATUR: UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN ANTOSIANIN *IN VITRO*



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I
pada Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi**

Oleh:

MOHAMMAD FARID ALFARIDZI

K 100 170 103

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
2020**

HALAMAN PERSETUJUAN

**KAJIAN LITERATUR: UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN ANTOSIANIN
*IN VITRO***

PUBLIKASI ILMIAH

oleh:

MOHAMMAD FARID ALFARIDZI

K 100 170 103

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



Prof. Dr. apt. Muhammad Da'i, M.Si

NIDN : 0617047401

HALAMAN PENGESAHAN

KAJIAN LITERATUR: UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN

ANTOSIANIN *IN VITRO*

Oleh:

MOHAMMAD FARID ALFARIDZI

K 100170103

Telah dipertahankan di depan Dewan
Penguji Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
dan dinyatakan telah memenuhi syarat pada:

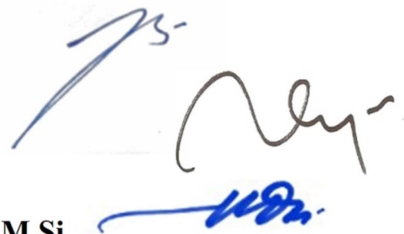
18/02/2021

Dewan Penguji:

Ketua Dewan Penguji: apt. Andi Suhendi, M.Sc.

Anggota 1 Dewan Penguji: apt. Wahyu Utami, Ph.D.

Anggota 2 Dewan Penguji: Prof. Dr. apt. Muhammad Da'i, M.Si.



Mengesahkan Dekan,



apt. Azis Saifudin, Ph.D

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam publikasi ilmiah ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

Surakarta, 8 Januari 2020

Penulis



MOHAMMAD FARID ALFARIDZI

K 100 170 103

KAJIAN LITERATUR: UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN ANTOSIANIN *IN VITRO*

Abstrak

Antosianin merupakan senyawa yang ketersediaannya sangat melimpah di alam. Senyawa ini memiliki struktur inti antosianidin yang terikat dengan satu atau lebih gugus glikosidik seperti glukosa. Antosianin memiliki banyak manfaat kesehatan salah satunya adalah antioksidan. Berbagai hasil publikasi penelitian menunjukkan aktivitas antioksidan antosianin melebihi vitamin C dan trolox. Tujuan penelitian ini adalah untuk membandingkan dan mengetahui sejauh mana aktivitas antioksidan yang dimiliki senyawa antosianin pada uji *in vitro* dari berbagai referensi. Penelitian ini merupakan kajian literatur dari berbagai artikel sesuai kriteria inklusi dan eksklusi yang dikumpulkan dari database "Pubmed" dan "Google Scholar". Hasil penelitian menunjukkan bahwa antosianin memiliki aktivitas antioksidan yang baik melalui kemampuan penangkapan radikal bebas dan pereduksi ion logam. Aktivitas tersebut dipengaruhi oleh formasi struktur dan gugus yang terikat seperti gugus hidroksil dan struktur katekol pada cincin A dan B serta adanya gugus 3-OH pada cincin C. Penambahan substituent gula memiliki pengaruh yang kecil pada aktivitas antioksidan, sedangkan adanya alkilasi dan asetilasi gugus hidroksil pada posisi C₅, C₇, C₈ menurunkan aktivitas antioksidan. Beberapa monomer seperti sianidin-3-O-galaktosida, delphinidin 3-O-rutinosida, malvidin-3-O-glukosida, sianidin-3-O-glukosida, sianidin-3-O-b-D-(6-(E)-kumaril) glukopiranosida, dan peonidin-3-kafeil-p-hidroksibenzil soporosida-5-glukosida diketahui memiliki kontribusi yang baik terhadap aktivitas antioksidan

Kata Kunci : Antosianin, Aktivitas antioksidan, Aktivitas Antiradikal.

Abstract

Anthocyanin is a substance that is abundant in nature. This compound has a core structure of anthocyanidin that is bound to one or more glycosidic clusters like glucose. Anthocyanin has many health benefits, one of which is antioxidant. The results of research publications suggest that antioxidant activities of anthocyanin greatly exceed vitamins C and trolox. The purpose of this research is to compare and understand the extent of antioxidant activity which is held by anthocyanin compound in vitro test from multiple references. The research is a literature review of various articles according to the inclusion and exclusion criteria collected from "pubMed" and "Google scholar" database. Research has shown that anthocyanin has a good antioxidant activity through free radical scavenger mechanism and metal ion reduction. Such activity is affected by structure formations and clusters such as hydroxyl and catechol structures on rings A and B and clusters 3-OH on ring C. The increased of sugar substituent has a small effect on antioxidant activity of anthocyanin, while alkylation and acetylation clusters have a fixed position of C₅, C₇, C₈, lowering its antioxidant activity. Some monomers such as cyanidin-3-O-galactoside, delphinidin-3-O-rutinoside, malvidin-3-O-glucoside, cyanidin-3-O-glucoside, cyanidin-3-O-b-D-(6-(E)-coumaroyl) glucopyranoside, and peonidin-3-caffeoyl-p-hydroxy benzoyl sophoroside-5-glucoside are known to contribute well to antioxdal activity.

Keywords: *Anthocyanins, Antioxidant activity, Antiradical activity.*

1. PENDAHULUAN

Antosianin adalah senyawa turunan polifenol yang sangat melimpah ketersediaannya di alam dengan keanekaragaman dalam berbagai jenis tumbuhan serta mempunyai berbagai fungsi fisiologis penting pada setiap organisme hidup (Priska *et al.*, 2018). Antosianin memiliki efek yang aman sehingga sering dimanfaatkan pada bidang pangan, kesehatan (sediaan farmasi), dan industri (kosmetik) (Priska *et al.*, 2018). Senyawa turunan dari polihidroksi dan polimetoksi 2-fenilbenzopirilium ini dibentuk oleh inti antosianidin yang mengikat beberapa gugus glikosidik seperti glukosa, galaktosa, dan fruktosa pada posisi C₃, C₅ atau C₇ (Smeriglio *et al.*, 2014). Biosintesis antosianin dari jalur flavonoid menghasilkan golongan senyawa fenolik yang vital. Lebih dari 600 jenis antosianin dari berbagai spesies sudah dilaporkan (Pervaiz *et al.*, 2017). Mengonsumsi jus yang mengandung antosianin mampu meningkatkan aktivitas superoksida dismutase (SOD) yaitu salah satu enzim antioksidan utama yang memiliki kemampuan dalam menangkal radikal bebas secara signifikan (Bakuradze *et al.*, 2019; Sheilaadji *et al.*, 2019).

Radikal bebas adalah suatu atom yang mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan sehingga memiliki sifat yang sangat reaktif (Khan *et al.*, 2018). ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan RNS (*Reactive Nitrogen Species*) adalah radikal yang dapat diperoleh secara endogen (mitokondria, retikulum endoplasma, peroksisom, sel fagositik, dll.) maupun secara eksogen (polusi, logam transisi, alkohol, pestisida, radiasi, pelarut industri, asap tembakau, logam berat, parasetamol, dan obat-obatan tertentu seperti halotan) (Phaniendra and Babu, 2015). Jumlah radikal bebas di dalam tubuh yang tidak mampu dinetralkan akan menyebabkan terjadinya stres oksidatif dan dapat memicu kerusakan sel, jaringan atau organ serta timbulnya penyakit degeneratif (Susantiningsih, 2015). Stres oksidatif dapat dicegah dengan memberikan antioksidan yang memadai bagi tubuh (Susantiningsih, 2015).

Antioksidan adalah senyawa yang memiliki peranan penting dalam melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan yang diakibatkan oleh radikal bebas dengan cara menangkap molekul radikal bebas sehingga menghambat reaksi oksidatif dalam tubuh yang merupakan penyebab berbagai penyakit (Hani & Milanda, 2013; Adawiah *et al.*, 2015). Senyawa yang memiliki aktivitas baik bagi tubuh ini secara umum dapat dijumpai pada buah-buahan yang berwarna cerah. Tingginya aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh keberadaan senyawa aktif atau metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak buah seperti antosianin, fenolik, flavonoid, dan tanin (Rahmi, 2017). Apabila kadar suatu senyawa antosianin tinggi maka aktivitas antioksidannya juga tinggi (Suhery *et al.*, 2016). Aktivitas antioksidan Senyawa antosianin bekerja dengan menangkap radikal bebas dan meningkatkan regulasi enzim

antioksidan intra sel. Aktivitas ini dipengaruhi oleh adanya susunan ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur antosianin (Barrowclough, 2015; Lee *et al.*, 2017).

Penelitian ini disusun untuk membandingkan dan mengetahui sejauh mana aktivitas antioksidan pada uji *in vitro* senyawa antosianin yang terkandung dalam berbagai tumbuhan di alam melalui pengkajian artikel publikasi yang ada.

2. METODE

Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah studi literatur. Penelusuran artikel ilmiah dilakukan secara daring dengan menggunakan base data “*Google Scholar*: (<https://scholar.google.co.id/>).” dan “*PubMed*: (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>)” dengan memasukkan kata kunci pencarian “*Antioxidant activity of anthocyanin*”, dan “*Anthocyanin*” and “*Antioxidant activity*”. Artikel untuk kajian literatur dicari dengan rentang tahun publikasi mulai 2011 sampai 2020. Berdasarkan hasil penelusuran dari “*Google Scholar*” dan “*PubMed*” diperoleh sejumlah 30 buah artikel dengan rincian 19 artikel diperoleh dari *Google Scholar* dan 11 artikel diperoleh dari *PubMed*. Selanjutnya artikel-artikel yang terkumpul diidentifikasi berdasarkan judul dan abstraknya. Pada tahapan ini ditemukan adanya duplikasi pada 2 artikel. Tahapan berikutnya artikel duplikasi disisihkan dan artikel lainnya diidentifikasi ulang berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi untuk menetapkan artikel yang diterima atau ditolak. Artikel yang diterima merupakan artikel *original* dan *full text* yang membahas uji aktivitas antioksidan monomer antosianin atau ekstrak mengandung antosianin secara *in vitro*, sedangkan artikel yang ditolak merupakan artikel *non original*, *non full text* dan yang membahas uji aktivitas antioksidan selain *in vitro*. Berdasarkan identifikasi yang dilakukan, didapatkan sebanyak tujuh buah artikel yang memuat informasi berkaitan uji aktivitas antioksidan antosianin secara *in vitro*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelusuran informasi mengenai aktivitas antioksidan monomer antosianin sampai sekarang terbilang masih kurang tersedia (Sun *et al.*, 2018), oleh karena itu, sebagian data yang ditampilkan pada kajian literatur ini merupakan aktivitas antioksidan dari fraksi antosianin suatu ekstrak dan ekstrak kasar yang diambil dari berbagai artikel publikasi yang ada.

Tabel 1. Hasil kajian literatur uji aktivitas antioksidan antosianin *in vitro*.

Referensi	Spesies	Senyawa ^a	Metode Uji Aktivitas Antioksidan (<i>In Vitro</i>) ^b	Hasil Uji ^c	Kesimpulan
(Sun <i>et al.</i> , 2018)	<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam.	PSPAs (antosianin ubi ungu)	DPPH	IC ₅₀ = 57,58 µg/mL	Uji aktivitas antioksidan secara <i>in vitro</i> dilakukan terhadap ekstrak antosianin ubi ungu (<i>Ipomoea batatas</i> (L.) Lam) dan 5 monomer antosianin berbasis peonidin. Pada uji aktivitas penangkapan radikal DPPH, radikal anion superoksida (O ₂ ^{•-}), dan kemampuan pengkelat ion besi (Fe ²⁺) diketahui bahwa peonidin-3-kafeil-p-hidroksibenzil soporosida-5-glukosida memiliki aktivitas antioksidan yang baik dibandingkan dengan ekstrak antosianin dan monomer lainnya. Hal tersebut ditandai dengan nilai IC ₅₀ berturut-turut seperti berikut: 26,71 µg/mL, 29,05 µg/mL, dan 116,95 µg/mL.
			Anion superoksida	IC ₅₀ = 87,08 µg/mL	
			FIC	IC ₅₀ = 287,85 µg/mL	
		Peonidin-3-soporosida-5-glukosida (P1)	DPPH	IC ₅₀ = 61,07 µg/mL	
			Anion superoksida	IC ₅₀ = 57,88 µg/mL	
			FIC	IC ₅₀ = 353,23 µg/mL	
		Peonidin-3-feruloil soporosida-5-glukosida (P2)	DPPH	IC ₅₀ = 47,22 µg/mL	
			Anion superoksida	IC ₅₀ = 45,14 µg/mL	
			FIC	IC ₅₀ = 213,74 µg/mL	
		Peonidin-3-kafeil soporosida-5-glukosida (P3)	DPPH	IC ₅₀ = 37,52 µg/mL	
			Anion superoksida	IC ₅₀ = 37,08 µg/mL	
			FIC	IC ₅₀ = 167,27 µg/mL	
		Peonidin-3-kafeil-p-hidroksibenzil soporosida-5-glukosida (P4)	DPPH	IC ₅₀ = 26,71 µg/mL	
			Anion superoksida	IC ₅₀ = 29,05 µg/mL	
			FIC	IC ₅₀ = 116,95 µg/mL	
		Peonidin-3-kafeil-feruloil soporosida-5-glukosida (P5)	DPPH	IC ₅₀ = 28,76 µg/mL	
			Anion superoksida	IC ₅₀ = 30,62 µg/mL	
			FIC	IC ₅₀ = 133,06 µg/mL	

Referensi	Spesies	Senyawa ^a	Metode Uji Aktivitas Antioksidan (<i>In Vitro</i>) ^b	Hasil Uji ^c	Kesimpulan
(Coklar & Akbulut, 2017)	<i>Mahonia aquifolium berries</i>	Ekstrak kasar (methanol : air)	DPPH	44,4 7mmol TE/kg FW	Hasil uji aktivitas antioksidan pada ekstrak kasar anggur oregon (<i>Mahonia aquifolium</i>) memiliki kapasitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan fraksi antosianin dan fraksi fenoliknya. Hal ini dibuktikan dari tingginya kadar hasil pada pengujian kapasitas antioksidan terhadap radikal DPPH, ABTS, dan FRAP berturut-turut sebagai berikut: 44,47 mmol TE/kg FW, 54,97 mmol TE/kg FW, dan 189,70 $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{g FW}$. Fraksi antosianin memiliki kapasitas antioksidan hampir 2 kali lebih tinggi dari fraksi fenolik.
			ABTS	54,97mmol TE/kg FW	
			FRAP	189,70 $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{g FW}$	
		Fraksi antosianin	DPPH	25,23 mmol TE/kg FW	
			ABTS	34,63 mmol TE/kg FW	
			FRAP	106,06 $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{g FW}$	
		Fraksi fenolik non-antosianin	DPPH	12,99 mmol TE/kg FW	
			ABTS	17,15 mmol TE/kg FW	
			FRAP	51,42 $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{g FW}$	
(Lee et al., 2015)	<i>Blackberry</i>	Sianidin-3-O-glukosida	ABTS	1,51 \pm 0,2 mg VCE/mg	Hasil uji kapasitas antioksidan monomer antosianin menggunakan metode ABTS diketahui bahwa sianidin-3-O-glukosida memiliki kadar yang paling tinggi pada ekstrak <i>blackberry</i> dan <i>blackcurrant</i> yaitu sebesar 1,51 \pm 0,2 mg VCE/mg dan 1,50 \pm 0,2 mg VCE/mg. Sedangkan sianidin-3-O-galaktosida memiliki kadar tertinggi pada ekstrak <i>Blueberry</i> yaitu 1,62 \pm 0,2 mg VCE/mg. Total aktivitas antioksidan fraksi antosianin ekstrak dari <i>blackberry</i> , <i>blackcurrant</i> dan <i>blueberry</i> berturut-turut seperti berikut: 148,0 mg VCE/100 mg, 79,0 mg VCE/100 mg, dan 94,0 mg VCE/100 mg.
		Sianidin-3-O-rutinosida	ABTS	1,00 \pm 0,2 mg VCE/mg	
	<i>Black currant</i>	Sianidin-3-O-glukosida	ABTS	1,50 \pm 0,2 mg VCE/mg	
		Sianidin-3-O-rutinosida	ABTS	1,00 \pm 0,2 mg VCE/mg	
	<i>Blueberry</i>	Sianidin-3-O-galaktosida	ABTS	1,62 \pm 0,2 mg VCE/mg	
		Sianidin-3-O-glukosida	ABTS	1,51 \pm 0,2 mg VCE/mg	

Referensi	Spesies	Senyawa ^a	Metode Uji Aktivitas Antioksidan (<i>In Vitro</i>) ^b	Hasil Uji ^c	Kesimpulan
(Cui <i>et al.</i> , 2013)	<i>Rhodomyrtus tomentosa</i> (Ait.) Hassk	Antosianin total (ekstrak murni)	DPPH	IC ₅₀ = 6,27 ± 0,25 µg/ml	Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak <i>Rhodomyrtus tomentosa</i> (Ait.) Hassk menggunakan metode DPPH dan ABTS didapatkan hasil IC ₅₀ berturut-turut sebagai berikut: 6,27 ± 0,25 µg/ml dan 90,3 ± 1,52 µg/ml, sedangkan pada uji menggunakan metode ORAC didapatkan kadar 9,29 ± 0,08 µmolTE /mg. Nilai IC ₅₀ pada uji DPPH dan ABTS tersebut lebih rendah dibandingkan dengan IC ₅₀ vitamin C yaitu 17,4 ± 0,31 µg/ml, dan 206 ± 2,37 µg/ml. Selain itu, ekstrak yang diuji menggunakan metode ORAC memiliki kadar yang tinggi dibandingkan dengan vitamin C yaitu 1,79 ± 0,03 µmolTE /mg.
			ABTS	IC ₅₀ = 90,3 ± 1,52 µg/ml	
			ORAC	9,29 ± 0,08 µmolTE /mg	
(Zhou <i>et al.</i> , 2020a)	<i>Vaccinum sp.</i>	Antosianin total (ekstrak <i>blueberry</i>)	DPPH	EC ₅₀ = 26,48 ± 9,42 µg/mL	Hasil uji aktivitas antioksidan antosianin yang terkandung dalam ekstrak <i>blueberry</i> menggunakan metode DPPH, ABTS, dan penangkapan radikal anion superoksida (O ₂ ^{•-}) menunjukkan hasil dalam EC ₅₀ berturut-turut seperti berikut: 26,48 ± 9,42 µg/mL, 14,99 ± 7,32 µg/mL, dan 29,17 ± 6,94 µg/mL. Hasil tersebut lebih rendah dibandingkan dengan uji sejenis yang dilakukan pada vitamin C sebagai kontrol yang memiliki EC ₅₀ berturut-turut seperti berikut: 62,44 ± 10,16 µg/mL, 18,75 ± 8,55 µg/mL, dan 84,38 ± 12,24 µg/mL. Pada uji menggunakan metode FRAP didapatkan hasil sebesar 1,93×106 ± 2516 mu.g FeSO ₄ /g, hasil tersebut lebih rendah daripada uji yang sama pada vitamin C.
			ABTS	EC ₅₀ = 14,99 ± 7,32 µg/mL	
			Anion superoksida	EC ₅₀ = 29,17 ± 6,94 µg/mL	
			FRAP	1,93×106 ± 2516 mu.g FeSO ₄ /g	

Referensi	Spesies	Senyawa ^a	Metode Uji Aktivitas Antioksidan (<i>In Vitro</i>) ^b	Hasil Uji ^c	Kesimpulan
(Bellocco <i>et al.</i> , 2016)	<i>Pistachia vera</i> <i>L. variety Bronte</i>	Sianidin-3-O-galaktosida	DPPH	≥ 1,98 kali lipat Trolox	Hasil uji aktivitas antioksidan monomer sianidin-3-O-galaktosida dari <i>Pistachia vera L. variety Bronte</i> dengan metode DPPH, ABTS, Anion superoksida (O ₂ ^{•-}), ORAC, dan FRAP rata-rata menghasilkan aktivitas yang jauh baik dibandingkan dengan senyawa antioksidan sintetis seperti Trolox, BHA, dan BHT.
				≥ 2,9 kali lipat BHA	
				≥ 3,14 kali lipat BHT	
			ABTS	≥ 2 lipat Trolox	
				≥ 2,99 kali lipat BHA	
				≥ 8 kali lipat BHT	
			Anion superoksida	6,2 kali lipat Trolox	
				16,0 kali lipat BHA	
				20,0 kali lipat BHT	
			ORAC	≥ 12,64 kali lipat Trolox	
				≥ 5,84 kali lipat BHA	
				≥ 33,65 kali lipat BHT	
			FRAP	≥ 2,10 kali lipat Trolox	
				≥ 2,77 kali lipat BHA	
				≥ 3,02 kali lipat BHT	

Referensi	Spesies	Senyawa ^a	Metode Uji Aktivitas Antioksidan (<i>In Vitro</i>) ^b	Hasil Uji ^c	Kesimpulan
(Joshi <i>et al.</i> , 2017)	<i>Camellia sinensis</i>	Sianidin-3-O-glukosida (AN ₁)	DPPH	IC ₅₀ = 40,44 ± 0,04 µg/mL	Hasil uji aktivitas antioksidan monomer antosianin teh ungu dan ekstrak kasar menggunakan metode DPPH dan ABTS menunjukkan IC ₅₀ yang bervariasi. Sianidin-3-O-β-D-(6-(E)-kumaril) glukopiranosida merupakan monomer yang memiliki nilai IC ₅₀ terkecil di antara monomer yang lainnya pada pengujian dengan metode DPPH dan ABTS berturut-turut seperti berikut: 25,27 ± 0,02 µg/mL dan 10,71 ± 0,01 µg/mL. Monomer ini juga memiliki persentase penghambatan dengan nilai yang tinggi yaitu 96,82% pada DPPH dan 99,32% pada ABTS. Kendati demikian nilai IC ₅₀ Sianidin-3-O-β-D-(6-(E)-kumaril) glukopiranosida secara signifikan masih lebih tinggi dibandingkan dengan trolox dan vitamin C.
			ABTS	IC ₅₀ = 32,22 ± 0,03 µg/mL	
		Sianidin-3-O-β-D-(6-(E)-kumaril) glukopiranosida (AN ₂)	DPPH	IC ₅₀ = 25,27 ± 0,02 µg/mL	
			ABTS	IC ₅₀ = 10,71 ± 0,01 µg/mL	
		Delpinidin-3-O-β-D-(6-(E)-kumaril) glukopiranosida (AN ₃)	DPPH	IC ₅₀ = 166,47 ± 0,12 µg/mL	
			ABTS	IC ₅₀ = 144,21 ± 0,16 µg/mL	
		Sianidin-3-O-(2-O-β-silopiranosil-6-O-asetil)-β-glukopiranosida (AN ₄)	DPPH	IC ₅₀ = 108,30 ± 0,10 µg/mL	
			ABTS	IC ₅₀ = 68,64 ± 0,11 µg/mL	
		Ekstrak kasar teh ungu (AN ₅)	DPPH	IC ₅₀ = 52,36 ± 0,03 µg/mL	
			ABTS	IC ₅₀ = 27,76 ± 0,02 µg/mL	

^a PSPAs = Purple sweet potato anthocyanins; P₁₋₅ = Peonidin monomer; AN₁₋₅ = Anthocyanin.

^b DPPH = 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrat; ABTS = Nitroblue tetrazolium, 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt; FIC = Ferrous ion chelatin; FRAP = Ferric reducing antioxidant power; ORAC = Oxygen radical absorbance capacity.

^c IC₅₀ = Inhibition concentration 50%; EC₅₀ = Effective Concentration 50; TE = Trolox ekuivalen; VCE = Vitamin C ekuivalen; FW = Fresh weight; BHA = Butylated hydroxyanisol; BHT = Butylated hydroxytoluene.

3.1 Aktivitas Antioksidan Berbagai Antosianin

Berdasarkan penelitian Sun *et al* (2018), aktivitas antioksidan tertinggi ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) yang diuji dengan metode penangkapan radikal DPPH, anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$) dan kemampuan membentuk kelat dengan ion logam besi menggunakan metode FIC (*Ferrous Ion Chelating*) diperoleh pada peonidin-3-kafeil-p-hidroksibenzil soporosida-5-glukosida (P4) dengan IC_{50} berturut-turut sebesar 26,71 $\mu\text{g/mL}$, 29,05 $\mu\text{g/mL}$ dan 116,95 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} menempatkan aktivitas penangkapan radikal P4 pada kategori sangat aktif dan aktivitas pembentukan khelat dengan ion logam pada kategori sedang (Jun *et al.*, 2003). Meskipun monomer P4 ini memiliki nilai IC_{50} yang paling rendah dibandingkan dengan ekstrak kasar dan monomer lainnya, namun apabila dibandingkan dengan vitamin C sebagai kontrol antioksidan pada uji menggunakan metode DPPH dan radikal anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$), monomer P4 memiliki aktivitas penangkapan radikal yang lebih lemah. Serupa dengan dua metode sebelumnya, pada pengujian menggunakan metode FIC monomer P4 juga menunjukkan aktivitas membentuk kelat ion logam yang lebih lemah jika dibandingkan dengan kontrol EDTA. Monomer P4 yang lebih lemah dibandingkan dengan senyawa kontrol dalam aktivitas penangkap radikal dan membentuk kelat ion logam secara pasti tidak diketahui selisih perbedaannya. Meskipun demikian, aktivitas penangkapan radikal dan pengkelat ion logam meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi monomer PSPA dan antosianin.

Dalam penelitian Coklar dan Akbulut (2017) kapasitas antioksidan fraksi antosianin anggur oregon (*Mahonia aquifolium*) yang diuji menggunakan metode DPPH, ABTS, dan FRAP menunjukkan hasil sebagai berikut: 25,23 mmol TE/kg FW, 34,63 mmol TE/kg FW, dan 106,06 $\mu\text{mol Fe}^{+2}/\text{g FW}$. Hasil pada uji DPPH dan ABTS dapat diartikan dalam setiap kilogram ekstrak basah, terkandung aktivitas antioksidan fraksi antosianin anggur oregon yang setara dengan 25,23 mmol dan 34,63 mmol trolox (analog vitamin E), sedangkan pada uji FRAP dapat diartikan dalam setiap gram ekstrak basah, fraksi antosianin anggur oregon mampu mereduksi Fe^{3+} menjadi Fe^{+2} sebanyak 106,06 μmol . Hasil tersebut lebih tinggi hampir dua kali lipat apabila dibandingkan dengan fraksi fenolik non antosianin, namun menunjukkan kapasitas antioksidan yang lebih rendah dibandingkan ekstrak kasar. Kapasitas antioksidan yang tinggi pada ekstrak kasar dimungkinkan karena adanya senyawa antioksidan lain seperti alkaloid dan vitamin C, maupun adanya interaksi sinergis antara polifenol dan antioksidan lain. Meskipun fraksi antosianin memiliki hasil yang lebih rendah dibandingkan ekstrak kasar, namun senyawa antosianin menjadi penyumbang aktivitas antioksidan ekstrak kasar pada uji DPPH, ABTS, dan FRAP dengan persentase berturut-turut 56,72%, 63,00%, dan 27,11%,

dimana diketahui sianidin-3-O-glukosida dengan kadar $253,40 \pm 7,27$ mg/100 g FW sebagai kontributor utama.

Lee *et al* (2015) menguji aktivitas antioksidan antosianin dari tiga jenis beri menggunakan metode ABTS. Pada hasil penelitian tersebut ditemukan bahwa kapasitas antioksidan yang tinggi pada *blackberry* dan *blackcurrant* dipengaruhi oleh senyawa monomer antosianin yang sama yaitu sianidin-3-O-glukosida dengan kadar $1,51 \pm 0,2$ mg VCE/mg dan $1,50 \pm 0,2$ mg VCE/mg. Pada *blueberry*, sianidin-3-O-galaktosida justru menunjukkan kapasitas antioksidan yang paling tinggi sebesar $1,62 \pm 0,2$ mg VCE/mg. Sianidin-3-O-glukosida pada *blackberry* dengan kadar 892.7 ± 3.9 mg/100 g dw berkontribusi menunjang aktivitas antioksidan sebesar 95,6% terhadap kapasitas total antioksidan fraksi antosianin dengan hasil konsentrasi 148,0 mg VCE/100 mg, sedangkan pada *blackcurrant*, sianidin-3-O-glukosida dengan kadar $49,9 \pm 2,8$ mg/100 g dw berkontribusi hanya 5,5% terhadap kapasitas total antioksidan fraksi antosianin dengan hasil konsentrasi 79,0 mg VCE/100 mg. Aktivitas sejenis juga terjadi pada sianidin-3-O-galaktosida dengan kadar $24,3 \pm 1,1$ mg/100 g dw yang berkontribusi 2,7% terhadap kapasitas total antioksidan fraksi antosianin yang diperoleh dengan konsentrasi 94,0 mg VCE/100 mg.

Uji aktivitas antioksidan lain yang dilakukan oleh Cui *et al* (2013), pada ekstrak murni kemunting (*Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) Hassk) yang mengandung antosianin dengan metode DPPH dan ABTS menghasilkan nilai IC_{50} sebesar $6,27 \pm 0,25$ μ g/ml dan $90,3 \pm 1,52$ μ g/ml. Nilai IC_{50} tersebut menempatkan aktivitas antioksidan ekstrak pada kategori sangat aktif dan aktif (Jun *et al.*, 2003). Nilai IC_{50} yang didapatkan lebih kecil apabila dibandingkan dengan uji yang sama pada vitamin C dengan hasil $17,4 \pm 0,3$ μ g/ml dan $206 \pm 2,37$ μ g/ml. Serupa dengan dua metode sebelumnya, metode ORAC menunjukkan hasil yaitu $9,29 \pm 0,08$ μ molTE/mg, dimana hasil tersebut lebih besar dibandingkan vitamin C yaitu $1,79 \pm 0,03$ μ molTE/mg. Hasil tersebut menggambarkan bahwa antosianin memberikan aktivitas antioksidan yang baik. Kandungan total antosianin pada penelitian ini ditetapkan menggunakan metode *pH differential* dan didapatkan kadar sebesar $62,8 \pm 1,2$ mg/100g FD dimana sianidin-3-O-glukosida diketahui sebagai senyawa utama dengan persentase 47%.

Pada uji aktivitas antioksidan antosianin *blueberry* (*Vaccinum sp.*) murni yang dilakukan oleh Zhou *et al* (2020) diperoleh hasil yang baik. Hasil tersebut dilihat dari nilai EC_{50} pada metode uji penangkapan radikal DPPH, ABTS, dan anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$) sebagai berikut $26,48 \pm 9,42$ μ g/mL, $14,99 \pm 7,32$ μ g/mL, dan $29,17 \pm 6,94$ μ g/mL. Nilai yang diperoleh ini menempatkan aktivitas penangkapan radikal pada kategori sangat aktif (Jun *et al.*, 2003). Selain itu, nilai EC_{50} lebih rendah dibandingkan kontrol vitamin C yaitu $62,44 \pm$

10,16 $\mu\text{g/mL}$, $18,75 \pm 8,55 \mu\text{g/mL}$, dan $84,38 \pm 12,24 \mu\text{g/mL}$. Pada uji menggunakan metode FRAP hasil yang berbeda terlihat dimana kadar reduksi ion besi oleh ekstrak yang didapatkan sebesar $1,93 \times 10^6 \pm 2516 \mu\text{g FeSO}_4/\text{g}$ sedangkan pada vitamin C sebesar $3,47 \times 10^6 \pm 4163 \mu\text{g FeSO}_4/\text{g}$. Hal tersebut menandakan aktivitas reduksi antosianin lebih kecil dibanding vitamin C sebagai kontrol. Meskipun kemampuan antioksidannya lebih rendah daripada vitamin C, namun antosianin menunjukkan peningkatan daya reduksi yang bergantung pada konsentrasi. Malvidin-3-O-glukosida merupakan monomer yang dominan dengan kadar sebesar $2.36 \pm 0.65 \text{ mg/g}$ sehingga berkontribusi lebih pada aktivitas antioksidan ekstrak *blueberry*.

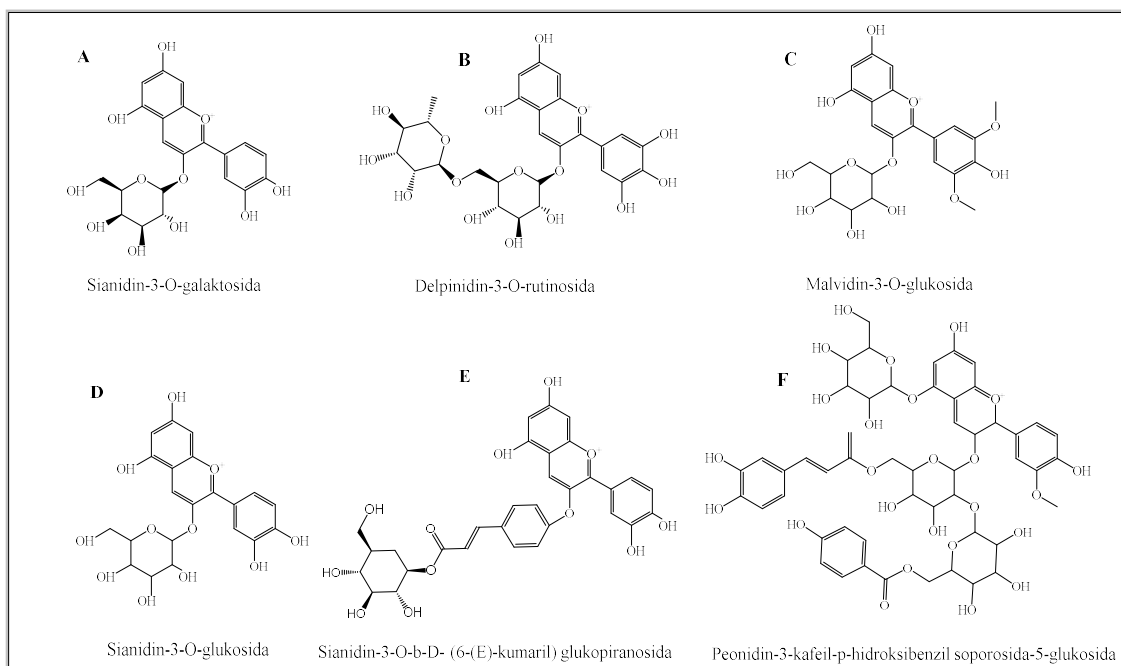
Joshi *et al* (2017) dalam penelitiannya menguji aktivitas antioksidan monomer antosianin dari teh ungu. Hasil penelitian menunjukkan aktivitas terbaik berasal dari Sianidin-3-O- β -D-(6-(E)-kumaril) glukopiranosida (A2) yang dibuktikan dengan nilai IC_{50} paling rendah pada uji penangkapan radikal DPPH dan ABTS yaitu $25,27 \pm 0,02 \mu\text{g/mL}$ dan $10,71 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} tersebut menempatkan aktivitas penangkapan radikal pada kategori sangat aktif (Jun *et al.*, 2003). Meskipun IC_{50} (A2) terbilang rendah, namun nilai tersebut masih lebih tinggi dibandingkan vitamin C dan trolox yaitu $1,74 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$ dan $2,66 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ pada uji DPPH, serta $1,09 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$ dan $1,21 \pm 0,01 \mu\text{g/mL}$ pada uji ABTS. Pada penelitian Bellocco *et al* (2016) aktivitas antioksidan sianidin-3-O-galaktosida dalam *Pistachia vera L. variety Bronte* secara lengkap diuji dengan menggunakan metode DPPH, ABTS, Anion superoksida ($\text{O}_2^{\bullet-}$), ORAC, dan FRAP. Hasil yang didapatkan menunjukkan adanya aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan senyawa antioksidan sintetis seperti trolox, BHA, dan BHT.

Antosianin memiliki aksi sebagai antioksidan melalui beberapa cara mulai dari menangkap radikal secara langsung, menghambat enzim yang membantu pembentukan radikal, kelasi logam transisi yang terlibat dalam pembentukan radikal sampai mereduksi radikal untuk mencegah proses peroksidasi (Zunic & Peter, 2017). Pada sebagian besar publikasi yang diulas Kajian literatur ini (Tabel 1), aktivitas antioksidan antosianin diuji berdasarkan kemampuannya dalam menangkap radikal bebas dan reduksi ion besi, sedangkan kemampuannya dalam kelating logam hanya ditunjukkan pada penelitian Sun *et al* (2018). Kemampuan antosianin dalam menangkap radikal secara umum masuk ke dalam kategori yang sangat aktif, hal tersebut dapat dilihat dari nilai $\text{IC}_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$ (Jun *et al.*, 2003; Sun *et al.*, 2018; Joshi *et al.*, 2017; Zhou *et al.*, 2020; Cui *et al.*, 2013). Selain itu, pada uji kapasitas antioksidan hal yang sama juga terlihat dimana kadar uji yang dihasilkan cukup baik melebihi fraksi fenolik (Coklar & Akbulut, 2017). Beberapa publikasi yang diulas pada

Kajian literatur ini menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan kontrol uji seperti vitamin C dan antioksidan sintetis seperti trolox, BHA, dan BHT (Bellocco *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2020; Cui *et al.*, 2013).

Kemampuan antosianin dalam menangkap radikal bebas diuji menggunakan metode DPPH, ABTS, Anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$), dan ORAC, Sedangkan kemampuan dalam mereduksi ion logam diuji dengan metode FRAP dan aktivitas membentuk khelat dengan logam diuji menggunakan metode FIC. Metode FIC yang digunakan untuk menguji aktivitas antioksidan senyawa peonidin-3-kafeil-p-hidroksibenzil soporosida-5-glukosida (P4) pada penelitian Sun *et al* (2018) menunjukkan nilai IC_{50} yaitu 116,95 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} tersebut terbilang cukup besar jika dibandingkan dengan metode yang lain. Menurut Maesaroh *et al* (2018), metode FIC memiliki sensitivitasnya yang sangat rendah dan daya kelatnya lebih kecil dari 20% pada uji aktivitas antioksidan terhadap senyawa standar. Potensi aktivitas antioksidan senyawa tersebut dapat dikategorikan sedang karena masuk dalam rentang 101-250 $\mu\text{g/mL}$ (Jun *et al.*, 2003).

Senyawa antosianin memiliki kontribusi yang cukup dipertimbangkan sebagai agen antioksidan alami pada uji aktivitas antioksidan suatu ekstrak. Hal tersebut diperkuat dengan penelitian yang dilakukan Coklar dan Akbulut (2017) dimana sianidin-3-O-glukosida dengan kadar $253,40 \pm 7,27 \text{ mg/100 g FW}$ sebagai antosianin utama dalam ekstrak kasar anggur Oregon (*Mahonia aquifolium berries*), turut menyumbangkan aktivitas penangkapan radikal pada uji menggunakan metode DPPH, ABTS, dan FRAP dengan persentase berturut-turut sebesar 56,72%, 63,00%, dan 27,11%. Pada beberapa publikasi penelitian yang diulas di atas terdapat beberapa monomer antosianin yang memiliki kontribusi terhadap aktivitas antioksidan seperti sianidin-3-O-galaktosida, delpinidin 3-O-rutinosida, malvidin-3-O-glukosida, sianidin-3-O-glukosida, sianidin-3-O-b-D- (6-(E)-kumaril) glukopiranosida, dan peonidin-3-kafeil-p-hidroksibenzil soporosida-5-glukosida (Bellocco *et al.*, 2016; Coklar and Akbulut, 2017; Cui *et al.*, 2013; Joshi *et al.*, 2017; Lee *et al.*, 2015; Sun *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2020). Formasi struktur dari monomer-monomer tersebut dapat dilihat pada gambar 1.

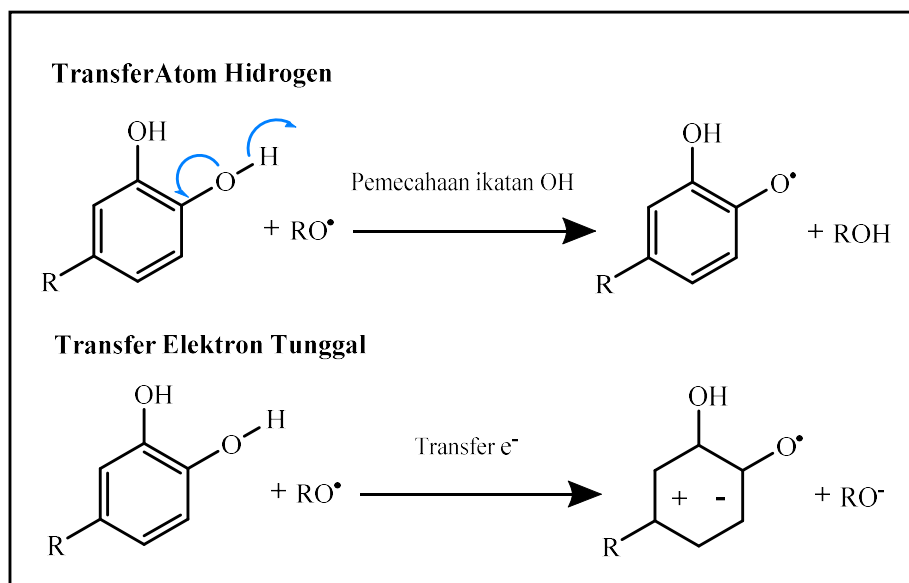


Gambar 1. Struktur senyawa antosianin yang memiliki aktivitas antioksidan kuat (A) sianidin-3-O-galaktosida, (B) delpinidin 3-O-rutinosida, (C) malvidin-3-O-glukosida, (D) sianidin-3-O-glukosida, (E) sianidin-3-O-b-D- (6-(E)-kumaril) glukopiranosida, dan (F) peonidin-3-kafeil-p-hidroksibenzil soporosida-5-glukosida (Coklar and Akbulut, 2017; Lee *et al.*, 2015; Cui *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2020; Bellocco *et al.*, 2016; Joshi *et al.*, 2017; Sun *et al.*, 2018; NCBI, 2020).

3.2 Mekanisme Umum Antioksidan

Aktivitas antioksidan suatu senyawa yang diuji secara *in vitro* didasarkan pada kemampuannya dalam menghambat radikal bebas melalui mekanisme transfer atom hidrogen (HAT) seperti pada metode ORAC atau kemampuan dalam mereduksi ion logam melalui mekanisme transfer elektron tunggal (SET) seperti pada metode FRAP, maupun kombinasi antara kedua mekanisme tersebut seperti pada metode DPPH dan ABTS (Ahmed *et al.*, 2019; Zunic & Peter, 2017; Kumar *et al.*, 2018).

Mekanisme transfer atom hidrogen (HAT) berlangsung dengan pelepasan atom hidrogen dari struktur senyawa antioksidan untuk diberikan kepada molekul radikal, sehingga molekul radikal akan mengalami rekombinasi pada strukturnya, kemudian molekul radikal tersebut akan berubah menjadi produk yang lebih stabil. Berbeda dengan mekanisme transfer atom hidrogen (HAT), pada mekanisme transfer elektron tunggal (SET), satu atau lebih suatu elektron dari senyawa antioksidan akan didonorkan kepada molekul radikal sehingga molekul tersebut menjadi lebih stabil (Islamadina *et al.*, 2020). Ilustrasi berlangsungnya mekanisme transfer atom hidrogen (HAT) dan transfer elektron tunggal (SET) dapat diamati pada gambar 2.



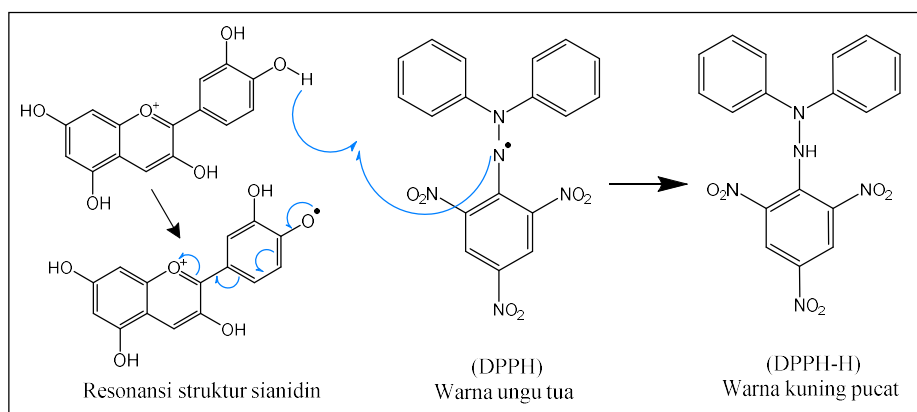
Gambar 2. Mekanisme aktivitas antioksidan polifenol (Ricci *et al.*, 2018)

3.3 Metode Uji Aktivitas Antioksidan *In vitro*

Aktivitas antioksidan antosianin pada berbagai publikasi yang sudah dihimpun umumnya menunjukkan hasil yang baik pada uji menggunakan metode DPPH, ABTS, FRAP, Anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$), dan ORAC.

3.3.1 DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl)

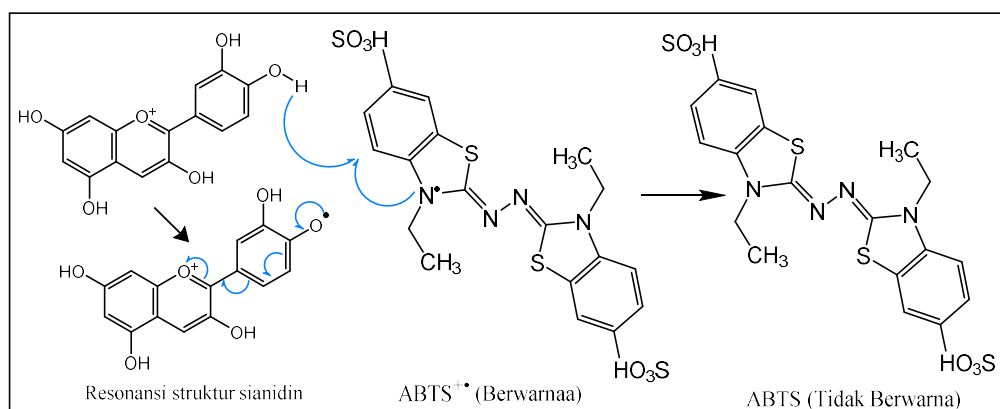
Pada uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) radikal bebas distabilkan dengan cara menerima atom hidrogen atau elektron dari senyawa antioksidan seperti antosianin. Mekanisme stabilisasi yang berlangsung akan berdampak pada terbentuknya radikal dengan bentuk tereduksi ($DPPH \rightarrow DPPH-H$). Perubahan yang terjadi dapat dilihat dari perubahan warna reagen DPPH. Elektron yang tidak berpasangan pada radikal DPPH akan menyerap sinar monokromatis pada λ 517 nm sehingga menyebabkan timbulnya warna ungu tua, sedangkan elektron tunggal yang berpasangan dengan elektron lain secara bertahap akan menyebabkan menurunnya intensitas warna ungu tua kemudian berubah menjadi warna kuning pucat (Sadeer *et al.*, 2020). Mekanisme aktivitas antioksidan suatu antosianin dalam menangkap radikal DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) dapat diamati pada gambar 3.



Gambar 3. Mekanisme aktivitas antioksidan metode uji DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) (Sadeer *et al.*, 2020; Ali *et al.*, 2015).

3.3.2 ABTS (2,2-Azinobis 3-Ethyl Benzothiazoline 6-Sulfonic Acid)

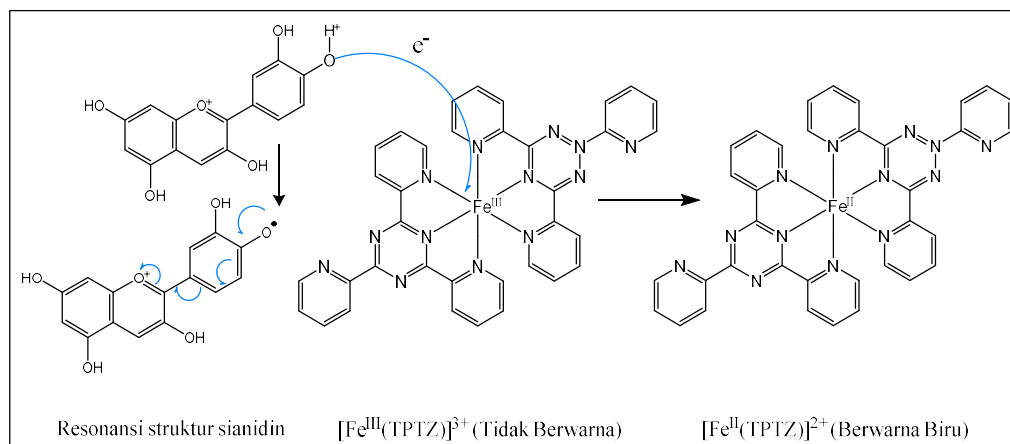
ABTS (2,2-Azinobis 3-Ethylbenzothiazoline 6-Sulfonic Acid) merupakan uji yang umum digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan suatu senyawa. Radikal ABTS dihasilkan dari reaksi garam ABTS dengan senyawa pengoksidasi kuat seperti kalium persulfate dan kalium permanganate. Uji ini mengukur kemampuan relatif suatu antioksidan dalam menangkap radikal yang dihasilkan dalam fase air dibandingkan dengan standar trolox (analog vitamin E larut air). Pengukuran aktivitas antioksidan didasarkan pada pembacaan absorbansi pada λ 415 nm dari hasil reduksi radikal ABTS yang disebabkan karena donor hidrogen dari suatu senyawa antioksidan. Hasil uji aktivitas antioksidan metode ini dinyatakan dalam TEAC (*Trolox equivalent antioxidant capacity*) (Tena *et al.*, 2020; Ratnavathi & Komala, 2016). Mekanisme aktivitas antioksidan suatu antosianin dalam menangkap radikal ABTS (2,2-Azinobis 3-Ethylbenzothiazoline 6-Sulfonic Acid) dapat diamati pada gambar 4.



Gambar 4. Mekanisme aktivitas antioksidan metode uji ABTS (2,2-Azinobis 3-Ethylbenzothiazoline 6-Sulfonic Acid) (Sadeer *et al.*, 2020; Ali *et al.*, 2015).

3.3.3 FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*)

FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) merupakan metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antioksidan suatu senyawa dengan mengukur reduksi ion besi Fe^{3+} kompleks ligan menjadi ion besi Fe^{2+} . Kemampuan senyawa antioksidan mendonasikan elektron menjadi mekanisme penting dalam uji ini karena terkait dengan reduksi yang terjadi. Pada awalnya reagen kompleks Fe^{3+} -TPTZ tidak terlihat berwarna, namun setelah bereaksi dengan senyawa antioksidan dan mengalami reduksi menjadi bentuk kompleks Fe^{2+} -TPTZ, maka warna biru akan mulai terlihat dan absorbansi pada λ 593 nm akan meningkat. Secara sederhana dapat disimpulkan bahwa uji FRAP menggunakan mekanisme reaksi redoks, dimana molekul oksidan sinyal akan berubah warna ketika direduksi oleh aksi gabungan redoks aktif dari elektron yang didonorkan oleh senyawa antioksidan yang diuji dan tidak melibatkan pembentukan radikal atau pembersihan radikal tambahan (Benzie & Devaki, 2018). Mekanisme aktivitas antioksidan suatu antosianin dalam mereduksi ion logam besi dapat diamati pada gambar 5.

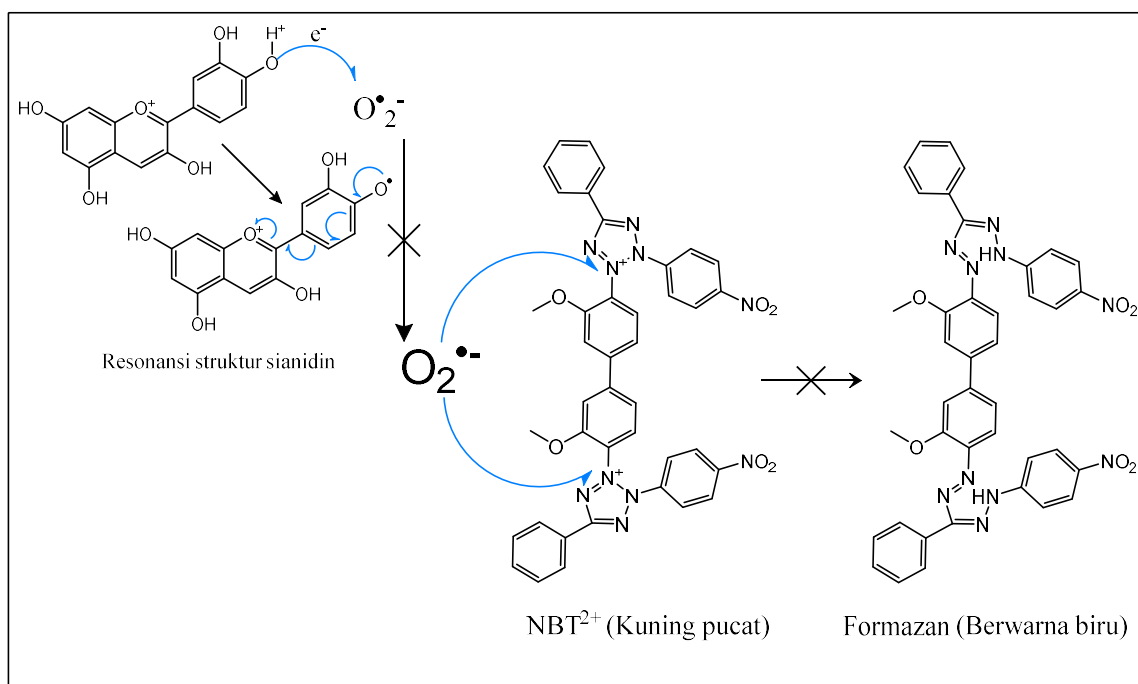


Gambar 5. Mekanisme aktivitas antioksidan metode uji FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) (Sadeer *et al.*, 2020; Ali *et al.*, 2015)

3.3.4 Anion Superoxid ($\text{O}_2^{\bullet-}$)

Penentuan kapasitas penangkapan radikal anion superoksida ($\text{O}_2^{\bullet-}$) dapat dilakukan dengan uji secara *in vitro* melalui skrining plat mikro berbasis spektrum dengan menggunakan NBT (*Nitroblue Tetrazolium*) atau sitokrom C sebagai target untuk mengevaluasi pembersihan radikal. Aktivitas pembersihan radikal tersebut dapat diamati berdasarkan hasil pembacaan absorbansi sampel menggunakan metode spektrofotometri pada daerah ultraviolet-visible (UV-Vis). Pada uji ini garam tetrazolium WST 1 digunakan sebagai agen yang akan bereaksi dengan anion superoksida ($\text{O}_2^{\bullet-}$) dan menghasilkan senyawa radikal stabil larut air (WST-1

formazan) yang dapat dideteksi pada λ 450 nm. Secara prinsip senyawa antioksidan yang diuji akan menetralkan radikal anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$) dengan mekanisme transfer elektron (SET) sehingga akan menghambat pembentukan formazan dan menunjukkan kapasitas antioksidannya seiring waktu dengan penurunan absorbansinya. Proses NBT digunakan untuk mengevaluasi kapasitas penghilangan radikal anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$) oleh antioksidan (Wang *et al.*, 2015; Becker *et al.*, 2019). Mekanisme aktivitas antioksidan suatu antosianin dalam menangkap radikal anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$) dapat diamati pada gambar 6.

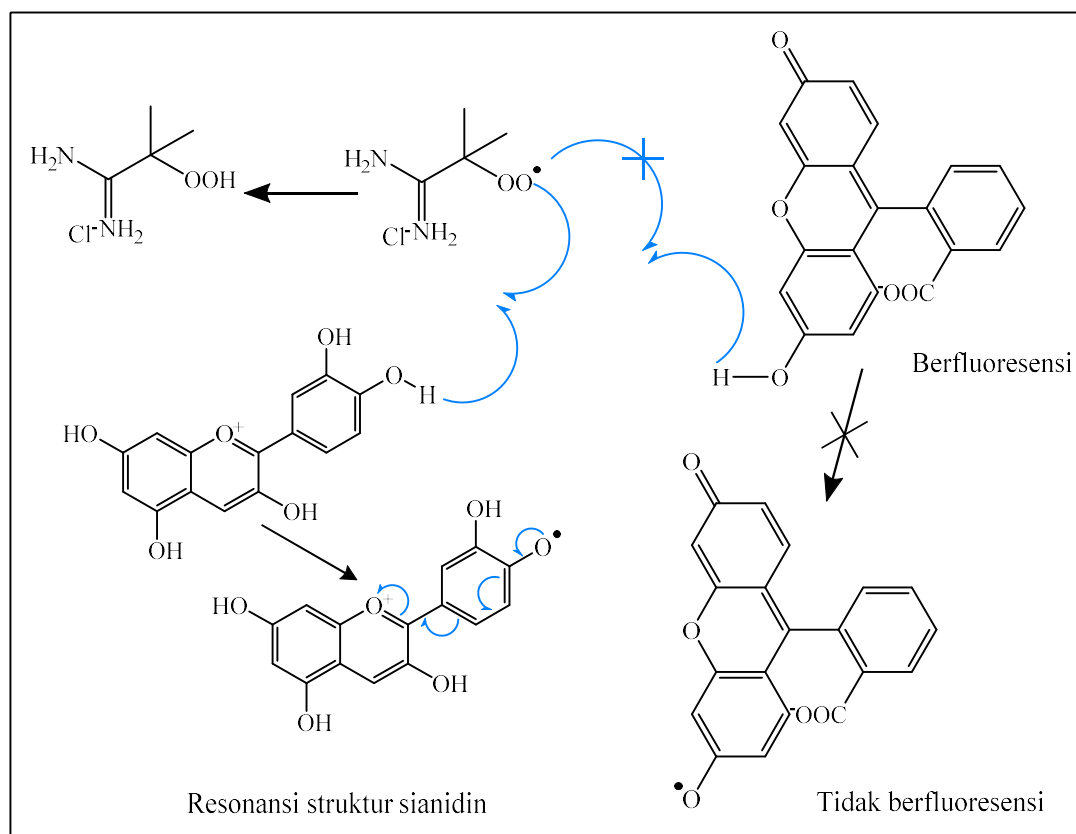


Gambar 6. Mekanisme aktivitas antioksidan terhadap radikal anion superoksida ($O_2^{\bullet-}$) (Sadeer *et al.*, 2020; Ali *et al.*, 2015)

3.3.5 ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

Uji aktivitas antioksidan dengan metode ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) didasarkan pada pembacaan absorbansi dari penghambatan penurunan fluoresensi. Azo initiator AAPH yang terlarut di dalam air menginisiasi terbentuknya radikal alkil peroksida yang dapat bereaksi dengan fluoresens sehingga menyebabkan hilangnya fluoresensi. Melalui mekanisme transfer atom hidrogen, senyawa antioksidan yang diuji akan bersaing dengan probe fluoresen untuk menangkap radikal peroksil (ROO^{\bullet}) sehingga mengakibatkan berkurangnya laju penurunan fluoresensi yang dapat diamati pada λ 520 nm. Antioksidan akan bereaksi dengan radikal berbeda yang diproduksi oleh agen penyebab radikal karena

degradasi termal. Hasil uji ORAC dinyatakan dalam satuan μM setara antioksidan standar (TE)/gram sampel (Kumar *et al.*, 2018; Valgimigli *et al.*, 2018). Mekanisme aktivitas antioksidan suatu antosianin dalam menangkap radikal peroksil (ROO^\bullet) dapat diamati pada gambar 7.



Gambar 7. Mekanisme aktivitas antioksidan metode uji ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*) (Ali *et al.*, 2015; Valgimigli *et al.*, 2018)

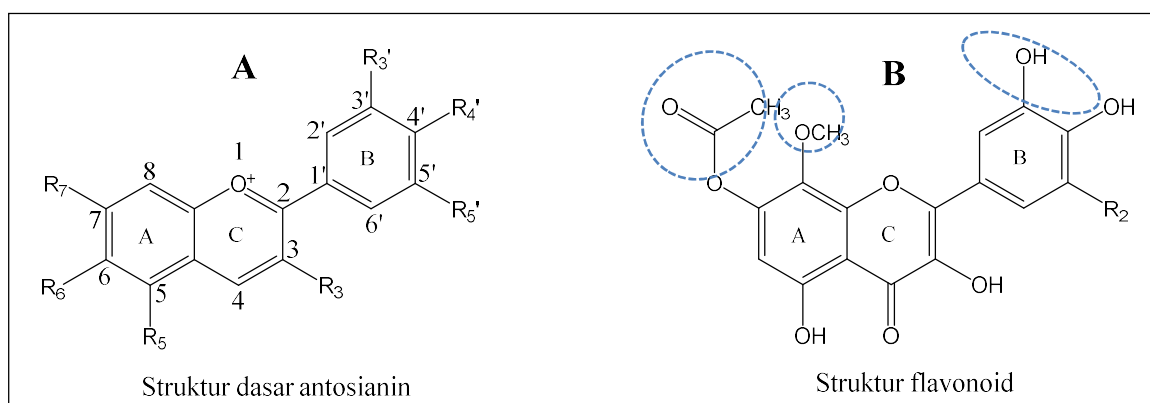
3.4 Hubungan Struktur dan Aktivitas

Antosianin merupakan suatu senyawa golongan fitokimia fenolik yang disintesis melalui jalur flavonoid. Struktur antosianin terdiri dari glikosida yang terikat pada aglikon antosianidin. Antosianidin memiliki beberapa macam jenis seperti pelargonidin, petunidin, sianidin, peonidin, malvidin, dan delphinidin (Pervaiz *et al.*, 2017). Pada berbagai penelitian beberapa dekade terakhir kemampuan penangkapan radikal yang dimiliki antosianin secara umum diketahui salah satunya melalui mekanisme serangan gugus hidroksil cincin B struktur antosianin (Khoo *et al.*, 2017).

Aktivitas antioksidan suatu antosianin diketahui akan meningkat seiring dengan penambahan gugus OH atau dengan adanya struktur katekol pada cincin B. Jumlah total dan

konfigurasi gugus hidroksil tersebut mengambil peranan penting dalam berlangsungnya mekanisme penangkapan radikal pada uji dengan metode DPPH, ABTS, dan aksi reduksi ion besi pada metode FRAP. Selain pada cincin B, keberadaan gugus OH dan struktur katekol pada cincin A serta gugus 3-OH pada cincin C juga diketahui memiliki aktivitas yang sama baiknya. Senyawa dengan struktur katekol pada cincin A maupun cincin B menjadi donor atom hidrogen yang lebih baik karena stabilisasi radikal yang dihasilkan dan menjadi donor elektron yang jauh lebih kuat. Berbagai jenis molekul gula yang terikat pada 3-OH memiliki dampak yang kecil pada aktivitas antioksidan suatu antosianin. Aktivitas antioksidan akan mengalami penurunan dengan adanya alkilasi dan asetilasi gugus hidroksil pada posisi C₅, C₇, dan C₈. Gugus 3-OH penting keberadaannya dalam reaksi transfer atom hidrogen karena resonansi 3-radikal yang melalui gugus 5-OH atau 7-OH dapat membentuk radikal semiquinon antosianin dan menghasilkan diketon yang stabil. Oleh karena itu, hilangnya gugus 3-OH pada struktur utama akan mengakibatkan stabilisasi radikal dari gugus 4'-OH, 5-OH dan 7-OH hanya dapat dicapai oleh resonansi melalui oksigen pirilium (Liu *et al.*, 2018; Ali *et al.*, 2015; Sarian *et al.*, 2017).

Senyawa antosianin seperti peonidin, malvidin, dan pelargonidin yang mengalami hidroksilasi identik pada aglikon di cincin A dan C serta memiliki ikatan satu gugus hidroksil di cincin B (4'-OH) mempunyai aktivitas yang lebih rendah jika dibandingkan dengan senyawa antosianin lainnya yang tersubstitusi dua ikatan hidroksil pada cincin B (3', 4' di-OH) seperti sianidin (Zunic & Peter, 2017). Ali *et al* (2016) dalam penelitiannya membandingkan aktivitas antioksidan senyawa antosianin yang tidak memiliki struktur katekol dan menemukan bahwa aktivitas senyawa dalam menangkap radikal OH, ABTS, dan DPPH mengalami penurunan dengan urutan sebagai berikut: malvidin > peonidin > pelargonidin > apigeninidin > 4-OH-flavilium. Masing-masing senyawa pada urutan tersebut tersebut diketahui secara berurutan memiliki 6, 5, 4, 3 dan 1 gugus hidroksil dan atau metoksi. Selain itu, pada pengujian kemampuan mereduksi dengan metode FRAP diperoleh hasil dengan urutan yang sama. Senyawa tanpa struktur katekol seperti malvidin boleh jadi memiliki aktivitas penangkapan radikal OH dan DPPH yang serupa atau lebih tinggi apabila dibandingkan dengan senyawa yang memiliki struktur katekol seperti sianidin yang mengikat substituen kurang stabil. Formasi struktur dan gugus yang menggambarkan pengaruh terhadap aktivitas antioksidan dari senyawa antosianin dapat diamati pada gambar 8.



Gambar 8. (A) Struktur dasar antosianin, (B) Struktur flavonoid (Khoo *et al.*, 2017; Sarian *et al.*, 2017)

Table 1. Formasi struktur monomer antosianin (Ali *et al.*, 2016; NCBI, 2020)

Monomer Antosianin	R ₃ '	R ₅ '	R ₃	R ₅
Sianidin-3-O-galaktosida	H	OH	O-gal	OH
Sianidin-3-O-glukosida	H	OH	O-glu	OH
sianidin-3-O-b-D- (6-(E)-kumaril) glukopiranosida	H	OH	O-kum	OH
Delpinidin 3-O-rutinosida	OH	OH	O-rut	OH
Malvidin-3-O-glukosida	O-Me	O-Me	O-glu	OH
Peonidin-3-kafeil-p-hidroksibenzil soporosida-5-glukosida	H	O-Me	O-kaf	O-glu

Berdasarkan pembahasan mengenai aktivitas antioksidan antosianin yang dihimpun dari berbagai artikel publikasi menunjukkan bahwa antosianin mempunyai aktivitas antioksidan yang baik. Sejalan dengan hal tersebut, beberapa monomer utama seperti sianidin-3-O-galaktosida, delpinidin 3-O-rutinosida, malvidin-3-O-glukosida, sianidin-3-O-glukosida, sianidin-3-O-b-D- (6-(E)-kumaril) glukopiranosida, dan peonidin-3-kafeil-p-hidroksibenzil soporosida-5-glukosida (Tabel 2) juga diketahui memiliki kontribusi yang baik pada aktivitas antioksidan. Formasi struktur dan gugus terikat seperti yang sudah dijelaskan pada pembahasan di atas juga turut memainkan peran penting dalam aktivitas penangkapan radikal maupun pereduksi ion logam.

4. PENUTUP

Berdasarkan Kajian literatur di atas dapat disimpulkan bahwa antosianin memiliki aktivitas antioksidan yang baik. Aktivitas–aktivitas tersebut erat kaitannya dengan formasi struktur senyawa beserta gugus yang terikat pada struktur utama. Keberadaan gugus hidroksil dan struktur katekol pada cincin A dan B serta adanya gugus 3–OH pada cincin C mampu meningkatkan aktivitas penangkapan radikal melalui mekanisme peningkatan donor atom hidrogen dan donor elektron, sedangkan adanya penambahan substituen molekul gula pada

gugus 3-OH memiliki pengaruh kecil terhadap aktivitas ini. Aktivitas antioksidan antosianin mengalami penurunan seiring dengan adanya alkilasi dan asetilasi gugus hidroksil pada posisi C₅, C₇, dan C₈. Beberapa monomer seperti sianidin-3-O-galaktosida, delphinidin 3-O-rutinosida, malvidin-3-O-glukosida, sianidin-3-O-glukosida, sianidin-3-O-b-D- (6-(E)-kumaryl) glukopiranosida, dan peonidin-3-kafeil-p-hidroksibenzil soporosida-5-glukosida diketahui memiliki kontribusi yang baik pada aktivitas antioksidan.

Penelitian mengenai aktivitas antioksidan isolasi senyawa monomer antosianin masih terbilang sedikit sehingga perlu dikembangkan lebih lanjut terutama aktivitas antioksidannya melalui mekanisme pembentukan khelat dengan logam.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiah A., Sukandar D. and Muawanah A., 2015, Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Namnam, *Jurnal Kimia VALENSI: Jurnal Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia*, 1 (2), 130–136.
- Ahmed Z. Ben, Mohamed Y., Johan V., Dejaegher B., Demeyer K. and Heyden Y. Vander, 2019, Defining a Standardized Methodology for the Determination of the Antioxidant Capacity: Case Study of: Pistacia atlantica leaves, *The Royal Society of Chemistry*, 145 (2), 557–571.
- Ali H.M., Almagribi W. and Al-Rashidi M.N., 2015, Antiradical and Reductant Activities of Anthocyanidins and Anthocyanins, Structure-Activity Relationship and Synthesis, *Food Chemistry*, 194, 1275–1282.
- Bakuradze T., Tausend A., Galan J., Groh I.A.M., Berry D., Tur J.A., Marko D. and Richling E., 2019, Antioxidative Activity and Health Benefits of Anthocyanin-Rich Fruit Juice in Healthy Volunteers, *Free Radical Research*, 53 (sup1), 1045–1055.
- Barrowclough R.A., 2015, The Effect of Berry Consumption on Cancer Risk, *Journal of Nutritional Health & Food Engineering*, 2 (1), 1–9.
- Becker M.M., Nunes G.S., Ribeiro D.B., Silva F.E.P., Catanante G. and Marty J.L., 2019, Determination of the Antioxidant Capacity of Red Fruits by Miniaturized Spectrophotometry Assays, *Short Report*, 30 (5), 1108–1114.
- Bellocco E., Barreca D., Laganà G., Calderaro A., El Lekhlifi Z., Chebaibi S., Smeriglio A. and Trombetta D., 2016, Cyanidin-3-O-galactoside in Ripe Pistachio (*Pistachia vera* L. variety Bronte) hulls: Identification and Evaluation of its Antioxidant and Cytoprotective Activities, *Journal of Functional Foods*, 27, 376–385.
- Benzie I.F.F. and Devaki M., 2018, The Ferric Reducing/Antioxidant Power (FRAP) Assay for Non-enzymatic Antioxidant Capacity: Concepts, Procedures, Limitations and Applications, *Measurement of Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends and Applications*, 77–106.
- Coklar H. and Akbulut M., 2017, Anthocyanins and Phenolic Compounds of Mahonia aquifolium berries and Their Contributions to Antioxidant Activity, *Journal of Functional Foods*, 35, 166–174.
- Cui C., Zhang S., You L., Ren J., Luo W., Chen W. and Zhao M., 2013, Antioxidant

- Capacity of Anthocyanins from *Rhodomyrtus tomentosa* (Ait.) and Identification of the Major Anthocyanins, *Food Chemistry*, 139 (1–4), 1–31.
- Hani R.C. and Milanda T., 2013, Review: Manfaat Antioksidan Pada Tanaman Buah di Indonesia, *Farmaka*, 14 (1), 184–190.
- Islamadina R., Can A. and Rohman A., 2020, Chemometrics Application for Grouping and Determinating Volatile Compound which related to Antioxidant Activity of Turmeric Essential Oil (*Curcuma longa* L), *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 8 (2), 227–241.
- Joshi R., Rana A., Kumar V., Kumar D., Padwad Y.S., Yadav S.K. and Gulati A., 2017, Anthocyanins Enriched Purple Tea Exhibits Antioxidant, Immunostimulatory and Anticancer Activities, *Journal of Food Science and Technology*, 54 (7), 1953–1963.
- Jun M., Fu H.Y., Hong J., Wan X., Yang C.S. and Ho C.T., 2003, Comparison of Antioxidant Activities of Isoflavones from Kudzu root (*Pueraria lobata* Ohwi), *Journal of Food Science*, 68 (6), 2117–2122.
- Khan F., Garg V.K., Singh A.K. and Kumar T., 2018, Role of Free Radicals and Certain Antioxidants in the Management of Huntington ' s disease : a review, *Journal of Analytical & Pharmaceutical Research Review*, 7 (4), 386–392.
- Khoo H.E., Azlan A., Tang S.T. and Lim S.M., 2017, Anthocyanidins and Anthocyanins: Colored Pigments as Food, Pharmaceutical Ingredients, and the Potential Health Benefits, *Food and Nutrition Research*, 61 (1), 0–21.
- Kumar S., Chaitanya R.K. and Preedy V.R., 2018, Assessment of Antioxidant Potential of Dietary Components, Dalam *HIV/AIDS*, Elsevier Inc., London, pp. 239–253.
- Lee S.G., Vance T.M., Nam T.G., Kim D.O., Koo S.I. and Chun O.K., 2015, Contribution of Anthocyanin Composition to Total Antioxidant Capacity of Berries, *Plant Foods for Human Nutrition*, 70 (4), 427–432.
- Lee Y.M., Yoon Y., Yoon H., Park H.M., Song S. and Yeum K.J., 2017, Dietary Anthocyanins Against Obesity And Inflammation, *Nutrients*, 9 (1098), 1–15.
- Liu Y., Tikunov Y., Schouten R.E., Marcelis L.F.M., Visser R.G.F. and Bovy A., 2018, Anthocyanin Biosynthesis and Degradation Mechanisms in Solanaceous Vegetables: A review, *Frontiers in Chemistry*, 6 (52), 1–17.
- Maesaroh K., Kurnia D. and Al Anshori J., 2018, Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin, *Chimica et Natura*, 6 (2), 93–100.
- Pervaiz T., Songtao J., Faghihi F., Haider M.S. and Fang J., 2017, Naturally Occurring Anthocyanin, Structure, Functions and Biosynthetic Pathway in Fruit Plants, *Journal of Plant Biochemistry & Physiology*, 5 (2), 1–9.
- Phaniendra A. and Babu D., 2015, Free Radicals : Properties , Sources , Targets , and Their Implication in Various Diseases, *Ind J Clin Biochem*, 30 (1), 11–26.
- Priska M., Peni N., Carvallo L. and Ngapa Y.D., 2018, Antosianin dan Pemanfaatannya, *Cakra Kimia Indonesia E-Journal of Applied Chemistry*, 6 (2), 79–97.
- Rahmi H., 2017, Review: Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Sumber Buah-buahan di Indonesia, *Jurnal Agrotek Indonesia*, 2 (1), 34–38.
- Ratnavathi C. V. and Komala V. V., 2016, Sorghum Grain Quality, Dalam *Sorghum*

Biochemistry: An Industrial Perspective, pp. 1–61.

- Ricci A., Parpinello G.P. and Versari A., 2018, Review Article The Nutraceutical Impact of Polyphenolic Composition in Commonly Consumed Green Tea, Green Coffee and Red Wine Beverages: A Review, *NorCal Open Access Publications Recent Advancement in Food Science and Nutrition Research*, 1 (1), 1–16.
- Sadeer N.B., Montesano D., Albrizio S., Zengin G. and Mahomoodally M.F., 2020, The Versatility of Antioxidant Assays in Food Science and Safety—Chemistry, Applications, Strengths, and Limitations, *Antioxidants*, 9 (709), 1–39.
- Sarian M.N., Ahmed Q.U., Mat So'Ad S.Z., Alhassan A.M., Murugesu S., Perumal V., Syed Mohamad S.N.A., Khatib A. and Latip J., 2017, Antioxidant and Antidiabetic Effects of flavonoids: A Structure-Activity Relationship Based Study, *BioMed Research International*, 2017, 1–15.
- Sheilaadji M.U., Listiawan M.Y. and Ervianti E., 2019, Hubungan Kadar Antioksidan Superoxide Dismutase (SOD) dengan Indeks Bakterial (IB) pada Pasien Kusta Baru Tipe Multibasiler (MB) tanpa Reaksi (Correlation of Superoxide Dismutase (SOD) Antioxidant Level with Bacterial Index (IB) in New Multibac, *Jurnal Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*, 31 (3), 100–109.
- Smeriglio A., Monteleone D. and Trombetta D., 2014, Health Effects of *Vaccinium myrtillus* L.: Evaluation of Efficacy and Technological Strategies for Preservation of Active Ingredients, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 14 (7), 1–18.
- Suhery W.N., Fernando A. and Has N., 2016, Uji Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Bekatul Padi Ketan Merah dan Hitam (*Oryza sativa* L. var. *glutinosa*) dan Formulasinya Dalam Sediaan Krim, *PHARMACY*, 13 (1), 101–115.
- Sun H., Zhang P., Zhu Y., Lou Q. and He S., 2018, Antioxidant and Prebiotic Activity of Five Peonidin-Based Anthocyanins Extracted from Purple Sweet Potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.), *Scientific Reports*, 8 (5018), 1–12.
- Susantiningih T., 2015, Obesitas dan Stres Oksidatif, *JuKe Unila*, 5 (9), 89–93.
- Tena N., Martín J. and Asuero A.G., 2020, State of the Art of Anthocyanins: Antioxidant Activity, Sources, Bioavailability, and Therapeutic Effect in Human Health, *Antioxidants*, 9 (451), 1–28.
- Valgimigli L., Baschieri A. and Amorati R., 2018, Antioxidant Activity of Nanomaterials, *Journal of Materials Chemistry B*, 6 (14), 1–42.
- Wang L., Liu S., Zheng Z., Pi Z., Song F. and Liu Z., 2015, Rapid Assay for testing superoxide anion radical scavenging activities to natural pigments by Ultra-High Performance Liquid Chromatography Diode Array Detection Method, *The Royal Society of Chemistry*, 7 (4), 1535–1542.
- Zhou L., Xie M., Yang F. and Liu J., 2020, Antioxidant Activity of High Purity Blueberry Anthocyanins and The Effects on Human Intestinal Microbiota, *Lwt-Food Science and Technology*, 117 (1086321), 1–12.
- Zunic B. and Peter S., 2017, World's Largest Science, Technology & Medicine Open Access book publisher, *INTECH*, 11, 205–255.